多刺绿绒蒿 *WD*40 基因家族的鉴定及生物信息学分析

任玉玲[1]，赵　艳[1]，赵成周[2*]，李　萍[1*]

(1. 青海大学 生态环境工程学院，西宁 810016；2. 青海大学 藏医学院/青海大学藏医药研究中心，西宁 810016)

摘　要：WD40 转录因子家族广泛参与调节植物生长、发育、次生代谢物积累和环境适应等过程。为了探究 WD40 家族在多刺绿绒蒿生长、发育和次生代谢物积累以及抗逆方面的作用，本研究基于多刺绿绒蒿全长转录组测序数据，鉴定了所有 *WD*40 基因，并对这些基因及其编码的蛋白进行了生物信息学分析。结果表明：共鉴定到 19 个 *WD*40 基因，编码的蛋白均具有 WD40 结构域，氨基酸数目 109~758 aa，分子量为 11 830~84 130 Da，预测大多数蛋白定位在细胞核中且都为亲水性蛋白；系统进化树分析表明多刺绿绒蒿与罂粟、博落回亲缘关系较近；*WD*40 基因启动子区域均存在数量不等的激素或逆境响应元件，表明该家族基因可能参与生长、发育和次生代谢物积累等多种生物学进程的调节；蛋白三级结构显示这些蛋白在进化过程中发生了不同程度的进化。这些结果可为深入研究多刺绿绒蒿 *WD*40 基因家族在其响应逆境胁迫和次生代谢物积累等方面的具体机制提供前期基础。

关键词：多刺绿绒蒿，WD40，生物信息学分析，基因家族，全长转录组

中图分类号：Q943　　　　　　**文献标识码：**A

Identification and bioinformatics analysis of *WD*40 gene family of *Meconopsis horridula*

Ren Yuling[1], ZHAO Yan[1], ZHAO Chengzhou[2*], LI Ping[1*]

(1. *College of Eco-Environmental Engineering, Qinghai University*, Xining 810016, China; 2. *Tibetan Medicine Research Center / College of Tibetan Medicine, Qinghai University*, Xining 810016, China)

Abstract: WD40, as a transcription factor family, is widely involved in regulating plant growth, development, secondary metabolite accumulation and environmental adaptation. In order to explore the role of the WD40 family in the growth, development, secondary metabolite accumulation and tolerance, all the *WD*40 genes of *Meconopsis horridula* were identified in this study based on the full-length transcriptome sequencing data and conducted bioinformatics analysis of these genes and their encoded proteins. The results were as follows: A total of 19 *WD*40 genes were identified, and all the proteins included typical WD40 domain, the amino acid numbers and molecular weight of the protein encoded by *WD*40 genes were 109−758 and 11 830−84 130 kDa, respectively, and

---

基金项目：国家自然科学基金青年项目(31801281, 31660063)；青海省科技厅基础研究项目(2019-ZJ-970Q)；教育部春晖计划项目(Z2017056)；三江源生态一流学科硕士研究生科技创新项目(2020-STXY-A-b1, 2021-stxy-Y3)[Supported by the National Natural Science Foundation of China (31801281, 31660063); Basic Research Project of Qinghai Science and Technology Department(2019-ZJ-970Q); Chunhui Project of the Ministry of Education(Z2017056); Sanjiangyuan Ecology First-class Discipline Postgraduates Science and Technology Innovation Project(2020-STXY-A-b1, 2021-stxy-Y3)]。

作者简介：任玉玲(1999-)，硕士研究生，研究方向为特色植物功能基因研究，(E-mail)1843373898@qq.com。

[*]**通信作者：**李萍，博士，副教授，研究方向为特色植物功能基因研究，(E-mail)liping2015@qhu.edu.cn。

[*]**通信作者：**赵成周，博士，副教授，研究方向为特色植物功能基因研究，(E-mail)qhdxzcz2016@163.com。

most of the proteins localized in the nucleus, and all proteins belonged to hydrophilic protein; Phylogenetic tree analysis showed that WD40 proteins of *M. horridula* were closely to *Papaver somniferum* and *Macleaya cordata*; The promoter region of *WD*40 gene contained different amounts of hormones or stress-response elements, suggesting that this family genes may be involved in the regulation of various biological processes, such as growth, development and secondary metabolite accumulation; The tertiary structure of WD40 proteins showed that these proteins evolved in different degrees during the evolutionary process. These results can provide a preliminary basis for further research on the specific mechanism of *WD*40 gene family in response to stress and secondary metabolite accumulation.

Key words: *Meconopsis horridula*, WD40, bioinformatics analysis, gene family, full-length transcriptome

WD40(WD40 domain-containing proteins)蛋白又被称作为 WD-repeat 蛋白，此类蛋白的 WD 基序约含有 40~60 个氨基酸残基，一般由 4~10 个高度保守的串联重复的 WD 组成，其 N 端是甘氨酸组氨酸二肽(Gly-His，GH)，C 端是色氨酸天冬氨酸二肽(Trp-Asp，WD)，广泛存在于真核生物中(Gachomo et al., 2014)。WD40 家族蛋白可以参与调节众多生物学过程，如细胞分裂、凋亡、分生组织、花的发育、细胞骨架组装、蛋白质转运、染色体修饰和光的信号传导等(Stirnimann et al., 2010; Mishra et al., 2014; Zhang & Zhang, 2015)。WD40 蛋白的一个共同特征是作为支架蛋白介导蛋白质-蛋白质及蛋白质-DNA 的相互作用，形成动态复合物(Xu & Min, 2011)，如在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中发现 WD40 家族成员 TTG1(Transparent testa glabra1)可结合 R2R3-MYB 和 bHLH 转录因子，形成 MYB-bHLH-WD40(MBW)复合物，进一步影响下游基因的表达，从而调节毛状体的起始、根毛的形成、类黄酮的生物合成等过程；此外，也可形成 TTG1-TT2-GL2 三元复合物对种子发育过程中脂肪酸、蛋白质等贮藏物质的积累起到负调作用(Zhang et al., 2003; Tsuchiya et al., 2004; Chen et al., 2015; Wei et al., 2019; Yang et al., 2021)。此前，已经对拟南芥、棉花(*Anemone vitifolia*)、水稻(*Oryza sativa*)、小麦(*Triticum aestivum*)、桃子(*Prunus persica*)等多个物种的 WD40 蛋白家族进行了全基因组的鉴定(Nocker & Ludwig, 2003; Ouyang et al., 2012; Hu et al., 2018; Salih et al., 2018; Feng et al., 2019)，但多刺绿绒蒿 *WD*40 基因家族还未被鉴定。

多刺绿绒蒿(*Meconopsis horridula*)属于罂粟科，为一年生草本植物，分布于西藏、青海、甘肃等地。其花鲜艳，有较高的观赏价值(杨永昌，1991)。此外，多刺绿绒蒿作为传统藏药材全草入药，具有清热、止痛、活血化瘀的功效，藏医用于治疗头伤、骨折、胸背疼痛等(帝玛尔•丹增彭措，2012)。现代药理学研究主要集中于抗癌、抗病毒、心脏保护等方面(郭志琴，2014)。植物的次生代谢物是抵抗外界不利环境的重要物质，也是药用活性成分的主要来源，因此，次生代谢物的积累与其生长环境条件紧密相关。青藏高原极其特殊的生长环境，包括高海拔、空气稀薄、昼夜温差大、紫外线强烈等导致多刺绿绒蒿富含生物碱、黄酮、萜类等次生代谢物，其中生物碱是其特征性成分(赵凤等，2017)。虽然已有研究表明 WD40 转录因子可以调节花青素、黄酮、丹参酮等次生代谢物的积累(Broun, 2005; Ramsay & Glover, 2005; Gutierrez & Torres, 2019; Li et al., 2019; 马文，2019; Meng et al., 2019; Shan et al., 2019)，但是 WD40 转录因子在生物碱积累中的作用及其详细机制还未见到相关报道，因此，本研究对多刺绿绒蒿 *WD*40 基因家族进行全长转录

组鉴定，并进行了相关生物信息学分析，以期为多刺绿绒蒿 *WD*40 基因家族在其响应逆境胁迫和其次生代谢物积累等方面的功能研究提供重要理论基础。

1 材料与方法

1.1 转录组测序

本实验中所用开花期的多刺绿绒蒿整株样品采摘于青海省湟中县群加乡(101°18′19.1″ E，36°11′4.89″ N，海拔 4 553.3 m)，由青海大学赵成周副教授确定为多刺绿绒蒿，样品用液氮保存送至上海欧易生物医学科技有限公司进行全长转录组测序，后续分析基于此测序结果数据。

1.2 WD40 蛋白序列的获取与鉴定

从多刺绿绒蒿转录组测序数据中筛选出含有 *WD*40 基因的数据，利用在线预测网站 ORF Finder (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/orfig.cgi)搜索获取具有完整 CDS 的 WD40 转录因子序列。通过本地 Blast 比对剔除无 WD40 结构域的蛋白序列。

1.3 多刺绿绒蒿 WD40 转录因子蛋白特征分析

利用 ExPASy protparam tool 分析 WD40 蛋白理化性质，包括氨基酸数目、蛋白分子量、理论等电点、不稳定系数、亲水性平均系数；利用 wolf-psort (https://www.genscript.com/wolf-psort.html)预测蛋白亚细胞定位；Prabi 用来预测蛋白的二级结构，包括 α-螺旋、β-转角、延伸链和无规则卷曲。

1.4 多刺绿绒蒿 WD40 蛋白家族成员的基序分布及基因结构

通过在线程序 SMART 对 WD40 蛋白结构域进行分析筛选；利用 MEME 对 19 个 WD40 蛋白保守结构域进行预测，保守性基序的数目限制选择 10，其他参数均采用默认值。

1.5 多刺绿绒蒿 WD40 蛋白的系统发育分析

在 NCBI 中下载罂粟(*Papaver somniferum*)、博落回(*Macleaya cordata*)、唐松草(*Thalictrum thalictroides*)、青蒿(*Artemisia annua*)、银杏(*Ginkgo biloba*)、大豆(*Glycine max*)的 WD40 蛋白质序列，利用 MEGA7 软件中的邻接法(Neighbor joining)构建系统进化树。其中，bootstrap 设置参数 1 000 次重复，得到的系统发育进化树数据在 iTOL(https://itol.embl.de/)网站进行可视化展示。

1.6 *WD*40 基因启动子顺式作用元件分析

从 *WD*40 基因家族的全长序列中提取 ATG 上游 1 000 bp 的一段序列作为启动子区域进行汇总，利用 Plant CARE (http://bioinformatics.psb. ugent.be/webtools/plantcare/html/)对启动子顺式作用元件进行在线分析，通过 TBtools 软件进行可视化展示。

1.7 WD40 蛋白三级结构预测

将鉴定出的多刺绿绒蒿 WD40 蛋白序列上传到 SWISS-MODEL 在线网站(https://swissmodel.ex-pasy.org/interactive)预测蛋白三级结构。

1.8 WD40 蛋白互作网络分析

将多刺绿绒蒿 WD40 蛋白质序列添加至 STRING 数据库并指定与拟南芥同源蛋白进行比较，利用最高相似分数的一组蛋白构建蛋白互作网络。

2 结果与分析

2.1 多刺绿绒蒿 WD40 蛋白基本信息及理化性质分析

从多刺绿绒蒿转录组数据中得到 24 个候选 WD40 蛋白序列，经过 BLAST 比对及 SMART 结构域预测软件共筛选出 19 条候选 WD40 序列。利用 ExPASy protparam tool 分析多刺绿绒蒿 WD40 蛋白的基本性质，预测结果显示(表 1)，多刺绿绒蒿 19 个 *WD*40 基因编码的蛋白氨基酸数目为 109~758 aa，19 个 WD40 蛋白的分子量介于 11 830~84 130 Da 之间；19 个 WD40 蛋白中理论等电点(PI)最大值为 9.56 (Mh_transcript_33640)，最小值为 4.37 (Mh_transcript_11768)，平均 PI 为 6.46。其中 14 个蛋白的 PI 小于 7，说明多数多刺绿绒蒿 WD40 蛋白表现为酸性；亚细胞定位发现大多数(13 个)WD40 蛋白定位于细胞核中，其余的定位于细胞质、细胞骨架及过氧化物酶体中，而 Mh_transcript_12870 蛋白是在细胞核和细胞质中共定位的；蛋白的亲、疏水性分析发现，19 个 WD40 蛋白的脂肪系数均小于 100，为亲水性蛋白；多刺绿绒蒿 WD40 转录因子家族中有 15 个 WD40 蛋白的不稳定系数大于 40，表明多刺绿绒蒿 WD40 转录因子家族大多为不稳定蛋白。预测蛋白的二级结构，α-螺旋占比 20.03 %，β-转角占比 7.56 %，无规则卷曲和延伸链分别占比 45.10 %和 27.32 %，从结果来看，多刺绿绒蒿 WD40 蛋白以无规则卷曲和延伸链为主要结构，α-螺旋及 β-转角为次要结构。

表 1 WD40 蛋白理化性质分析

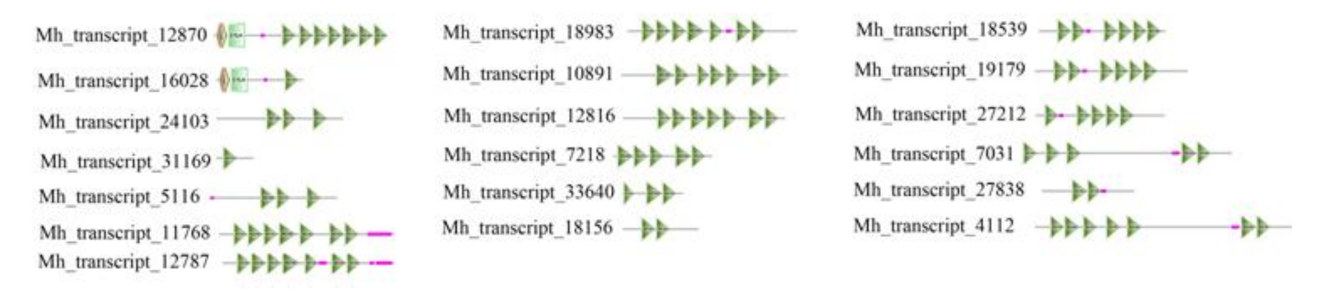
Table 1 Analysis of the physicochemical characteristics of WD40 protein

蛋白名称 Protein name	氨基酸大小 Amino acid size (aa)	分子量 Molecular weight (Da)	理论等电点 PI	亚细胞定位 Subcellular location	亲水性平均系数 GRAVY	不稳定系数 Instability index	二级结构 Secondary structure			
							α-螺旋 α-helix (%)	β-转角 β-angle (%)	无规卷曲 Random coil (%)	延伸链 Extended strand (%)
Mh_transcript_12870	513	57 795.89	6.61	细胞核/细胞质 Nucleus/Cytoplasm	-0.379	42.77	33.72	10.33	29.63	26.32
Mh_transcript_16028	256	29 031.21	5.75	细胞质 Cytoplasm	-0.372	53.20	49.22	7.42	32.42	10.94
Mh_transcript_24103	374	42 090.87	4.63	细胞核 Nucleus	-0.508	47.54	10.70	5.08	52.94	31.28
Mh_transcript_31169	109	11 828.57	4.63	细胞质 Cytoplasm	0.283	69.32	11.93	7.34	42.20	38.53
Mh_transcript_5116	377	42 363.09	4.63	细胞骨架 Cytoskeleton	-0.528	47.80	11.67	3.98	52.79	31.56
Mh_transcript_11768	517	57 340.18	4.37	过氧化物酶体 Peroxisome	-0.725	31.01	11.80	7.74	52.80	27.66
Mh_transcript_12787	507	56 200.92	4.42	细胞核 Nucleus	-0.698	36.54	11.05	7.89	52.66	28.40
Mh_transcript_18983	500	55 469.66	5.60	细胞核 Nucleus	-0.520	38.95	16.40	8.80	47.40	27.40
Mh_transcript_10891	493	55 518.37	7.92	细胞核 Nucleus	-0.522	43.79	15.82	7.91	48.68	27.59
Mh_transcript_12816	480	54 032.67	8.45	细胞核 Nucleus	-0.551	44.42	16.25	7.92	49.17	26.67
Mh_transcript_7218	291	33 085.99	6.59	细胞核 Nucleus	-0.567	38.89	8.59	10.31	47.42	33.68
Mh_transcript_33640	178	20 528.18	9.56	细胞核 Nucleus	-0.644	48.66	11.80	8.99	47.19	32.02
Mh_transcript_18156	224	25 332.65	6.51	细胞核 Nucleus	-0.360	43.97	16.52	7.59	41.96	33.93

Mh_transcript_18539	375	42 152.45	6.83	细胞质 Cytoplasm	-0.479	40.56	15.20	8.27	42.13	34.40
Mh_transcript_19179	452	51 742.85	9.46	细胞核 Nucleus	-0.638	47.43	25.00	6.64	40.04	28.32
Mh_transcript_27212	381	43 465.27	9.44	细胞核 Nucleus	-0.677	46.12	23.62	7.61	39.63	29.13
Mh_transcript_7031	618	68 573.05	6.09	细胞核 Nucleus	-0.514	59.54	31.72	5.66	46.28	16.34
Mh_transcript_27838	274	30 271.57	5.35	细胞核 Nucleus	-0.560	44.79	29.56	8.03	46.35	16.06
Mh_transcript_4112	758	84 130.43	5.90	细胞核 Nucleus	-0.466	57.32	29.95	6.07	45.12	18.87

2.2 多刺绿绒蒿 WD40 转录因子保守结构域鉴定及基序分析

通过在线程序 SMART 对多刺绿绒蒿 WD40 转录因子进行结构域分析对比，结果如图 1 所示，19 个多刺绿绒蒿 WD40 蛋白具有共同的保守结构域 WD40，且数量在 1~7 之间分布。此外，Mh_transcript_12870 和 Mh_transcript_16028 转录因子还含有 LisH 结构域和 CTLH 结构域。



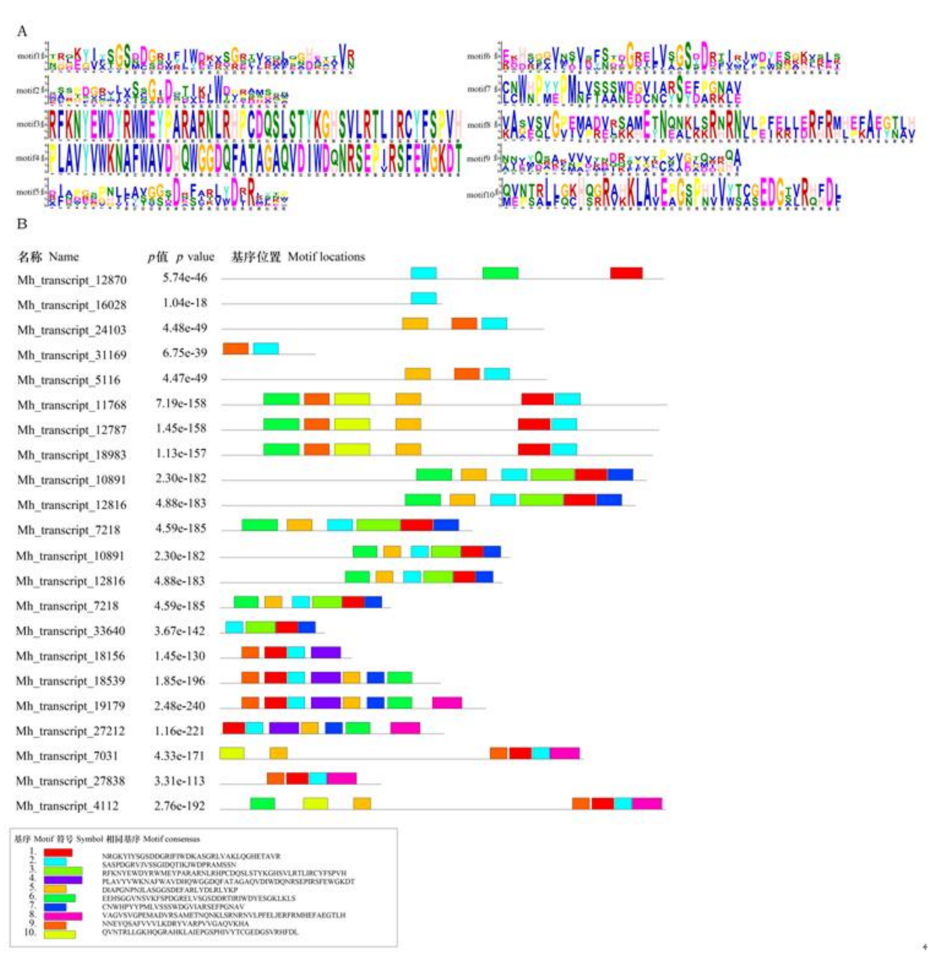
深绿色三角代表WD40保守结构域，褐色菱形代表LisH结构域，浅绿色方块代表CTLH结构域。

The dark green triangle represents the conserved WD40 domain, the brown diamond represents the LisH domain, and the light green square represents the CTLH domain.

图 1 WD40 蛋白家族结构域预测

Fig. 1 WD40 protein family domain prediction

为确定 WD40 蛋白的功能特征，利用在线软件 MEME (http://meme-suite.org/)搜索 19 个多刺绿绒蒿 WD40 蛋白共有的保守基序，共得到 10 个保守元件(图 2：A)，记作 motif1~motif10；其中 motif2 存在于所有多刺绿绒蒿 WD40 蛋白中，是这 10 个基序中最保守的基序，其次是 motif1。此外，通过分析 10 个基序分布规律发现转录因子 Mh_transcript_19179 所含的 motif 数量最多(8 个)，而最少的只含有 1 个 motif (Mh_transcript_16028)(图 2：B)。



A. 保守元件；**B**. 基因结构。

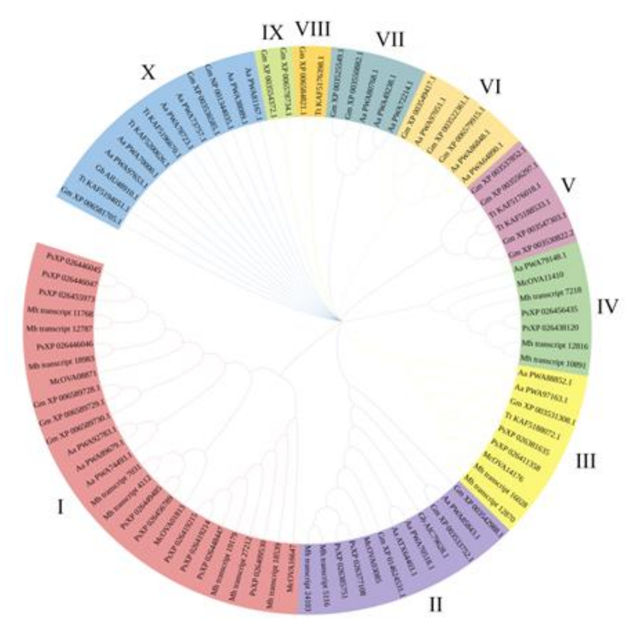
A. Conserved element; **B**. Gene structure.

图 2 多刺绿绒蒿 *WD*40 基因家族保守元件和基因结构分析

Fig. 2 Analysis of conserved elements and gene structure of *Meconopsis horridula WD*40 gene family

2.3 多刺绿绒蒿 WD40 蛋白的系统发育分析

在 NCBI 中通过 BLAST 比对查找罂粟、博落回、唐松草、青蒿、银杏、大豆等 6 个物种的 WD40 蛋白序列，利用 MEGA7 构建系统发育树，结果如图 3 所示，根据氨基酸序列相似性，进化树分析将 WD40 蛋白聚为 I~X 个分支，而多刺绿绒蒿 WD40 蛋白主要分布在分支 I、II、III、IV 中，并且与罂粟和博落回的亲缘关系更近。



Mh. 多刺绿绒蒿；**Ps**. 罂粟；**Mc**. 博落回；**Tt**. 唐松草；**Aa**. 青蒿；**Gb**. 银杏；**Gm**. 大豆。

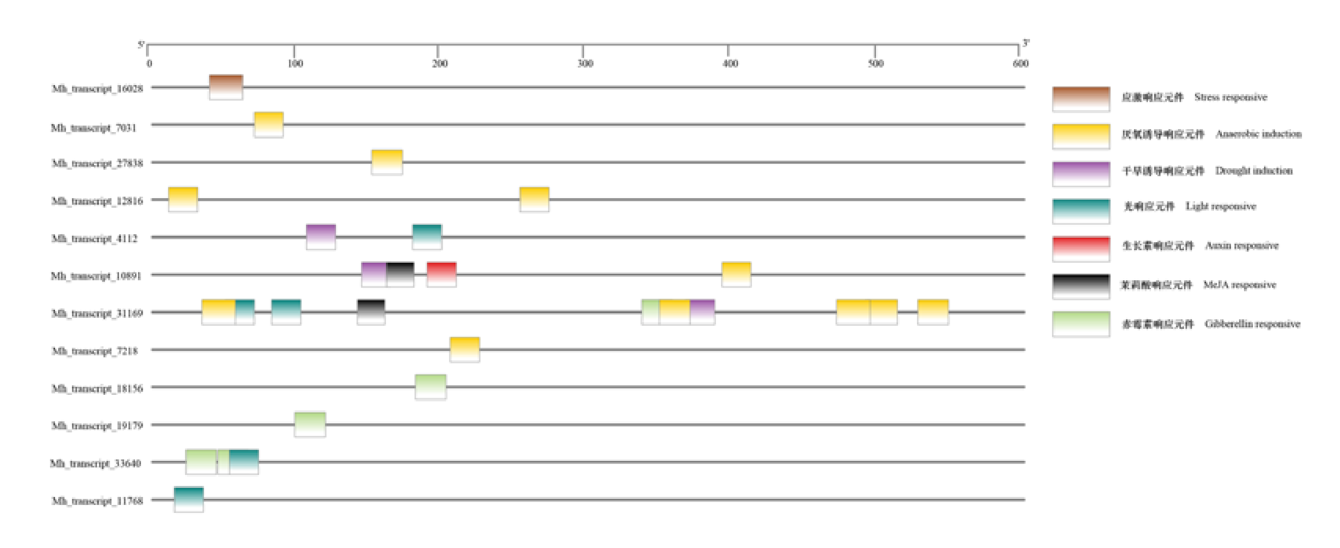
Mh. *Meconopsis horridula*; **Ps**. *Papaver somniferum*; **Mc**. *Macleaya cordata*; **Tt**. *Thalictrum thalictroides;* **Aa**. *Artemisia annua;* **Gb**. *Ginkgo biloba*; **Gm**. *Glycine max*.

图 3 WD40 系统进化关系

Fig. 3 Phylogenetic relationship of WD40

2.4 多刺绿绒蒿 WD40 启动子顺式作用元件

为明确 *WD*40 基因家族可能的生物学功能和响应特性，利用 PlantCARE 对家族各成员启动子序列中包含的顺式作用元件进行了分析。由图 4 可知，该基因家族含有多种胁迫及植物激素相关的顺式作用元件，主要包括应激响应元件、光响应元件、干旱诱导响应元件、厌氧诱导响应元件、生长素响应元件、茉莉酸响应元件、赤霉素响应元件。不同成员所含元件的种类与数量存在差异，例如 Mh_transcript_31169 共含有 10 个作用元件，其中有 5 个是光响应元件，而最少的只含有 1 个作用元件。



上方比例尺表示基因启动子长度，左侧是基因名称，右侧是相关的作用元件。

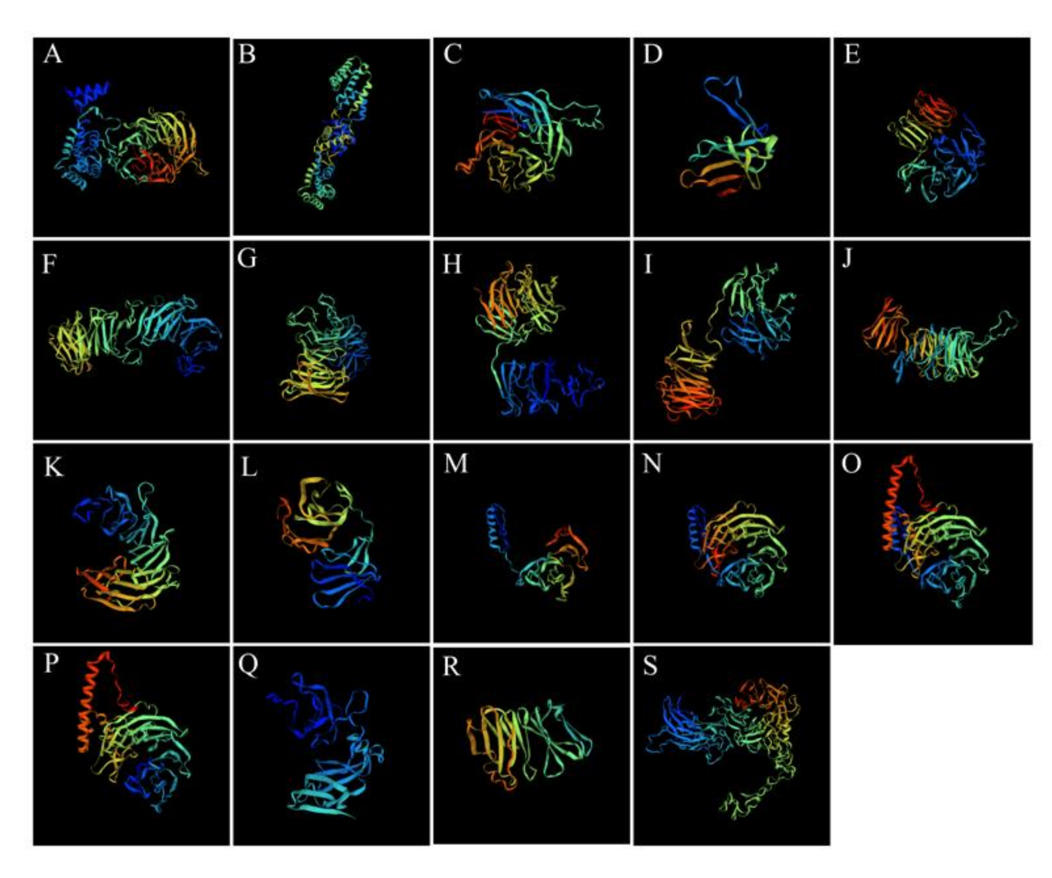
The top scale represents the length of the gene promoter, the left is the gene name, and the right is the associated action element.

图 4 WD40 家族启动子顺式调控元件分析

Fig. 4 Analysis of WD40 family promoter Cis regulatory elements

2.5 多刺绿绒蒿 WD40 蛋白三级结构预测

运用 SWISS-MODEL 在线网站对多刺绿绒蒿 WD40 蛋白家族三级结构进行预测，由图 5 可知，多刺绿绒蒿 WD40 蛋白包含 α-螺旋、β-转角、无规则卷曲及延伸链等空间构象。



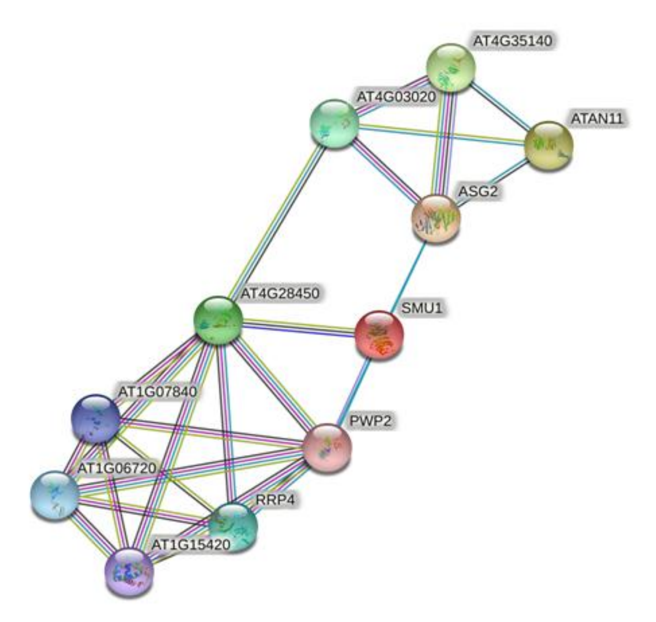
A. Mh_transcript_12870; **B**. Mh_transcript_16028; **C**. Mh_transcript_24103; **D**. Mh_transcript_31169; **E**. Mh_transcript_5116; **F**. Mh_transcript_11768; **G**. Mh_transcript_12787; **H**. Mh_transcript_18983; **I**. Mh_transcript_10891; **J**. Mh_transcript_12816; **K**. Mh_transcript_7218; **L**. Mh_transcript_33640; **M**. Mh_transcript_18156; **N**. Mh_transcript_18539; **O**. Mh_transcript_19179; **P**. Mh_transcript_27212; **Q**. Mh_transcript_7031; **R**. Mh_transcript_27838; **S**. Mh_transcript_4112.

图 5 WD40 家族蛋白三级结构预测

Fig. 5 Prediction of tertiary structure of WD40 family proteins

2.6 多刺绿绒蒿 WD40 蛋白互作网络分析

蛋白之间的互作对转录因子的活性及作用机制十分重要，本研究通过 STRING 在线网站，基于拟南芥同源蛋白互作数据构建了多刺绿绒蒿 WD40 蛋白的互作网络，以便系统分析 WD40 的作用机制。该研究预测发现与多刺绿绒蒿 WD40 蛋白相互作用的蛋白有 ASG2、SMU1、ATAN11、PWP2、RRP4 等(图 6)，蛋白 AT4G28450 可能作为其互作的中心。



图中彩色圆球分别表示不同的蛋白，彩色圆球内部是该蛋白所对应的三级结构。不同蛋白之间的连线所代表的含义具体如下：**天蓝色线**. 从精选数据库获得；**紫色线**. 实验确定；**绿色线**. 基因领域；**深蓝色线**. 基因共现；**鹅黄色线**. 文本数据挖掘；**黑色线**. 共表达；**浅蓝色线**. 蛋白同源。

The colored sphere in the figure represents different proteins, and inside the colored sphere is the tertiary structure corresponding to the protein. The connecting wires between different proteins represent specifically as follows: **Sky blue wire**. From curated databases; **Purple wire**. Experimentally determined; **Green wire**. Gene neighborhood; **Dark blue wire**. Gene co-occurrence; **Yellow wire**. Textmining; **Black wire**. Co-expression; **Light blue wire**. Protein homology.

图 6 WD40 家族蛋白互作网络

Fig. 6 The WD40 family protein-protein interaction (PPI) network

3 讨论与结论

WD40 蛋白家族能够参与植物多个特定生物学过程，比如细胞骨架动态、配子发生、色素积累、毛状体和根毛形成以及种子发育(Zeng et al., 2009; Gao et al., 2012; Zhao et al., 2013; Gachomo et al., 2014; Pattanaik et al., 2014)。此外，这些蛋白通常也响应植物激素途径和不同的环境胁迫(Zhu et al., 2008; Shi et al., 2011; Jiang et al., 2012)。因此，对该蛋白家族的鉴定可为后续深入研究这些蛋白在多刺绿绒蒿适应极端环境、多刺形成和特色成分异喹啉生物碱积累等方面提供前期基础，这些系列研究进一步拓展 WD40 蛋白功能，并进一步揭示其发挥特定生物学功能的复杂网络调控机制，从而广泛理解 WD40 蛋白家族在植物生长、发育以及环境适应等方面的生物学功能。

本研究共鉴定到多刺绿绒蒿 19 个 *WD*40 基因，与红花(*Flos carthami*)(40 个)(王刚等，2020)、黑果枸杞(*Lycium ruthenicum*)(38 个)、蓖麻(*Ricinus communis*)(182 个)、桃(219 个)、大豆(471 个)等物种中鉴定的 *WD*40 基因数差异较大，这可能是由于多刺绿绒蒿属于罂粟科植物，与上述植物分类上距离较远，特定的生长环境、次生代谢物和不同的形态特征都显示多刺绿绒蒿和这些植物在进化上发生了较大差异，而这些蛋白随着植物的长期进化也发生了不同程度的改变(Bian et al., 2017; Feng et al., 2019; 严莉等，2019; 苟亚夫等，2021)。而且发现多刺绿绒蒿 WD40 蛋白的氨基酸数量、等电点以及蛋白的高级结构均存在差异，这与在许多植物中鉴定到的 WD40 蛋白一样。由于 WD40 蛋白的功能涉及生长发育、次生代谢物积累和环

境适应等多种生物学过程，而且不同的生物学过程可能相互作用的蛋白也不相同，因此，多刺绿绒蒿不同的 WD40 蛋白可能是为执行不同的生物学功能进化形成的(卢成达等，2021)。不同 WD40 蛋白质所含 WD40 基序数目也不同，而且部分蛋白质同时含有其他的重要结构域，这种现象在谷子 WD40 蛋白中也有发现，225 个谷子 WD40 蛋白中有 79 个蛋白包含其他结构域(Mishra et al., 2014)，这些其他结构域的存在使 WD40 蛋白质结构和功能更加多样化，从而适应更多的生物学过程或对某一生物学过程进行更加精准的调节。亚细胞定位结果表明多刺绿绒蒿 WD40 蛋白质主要分布于细胞核中，这可能是核定位信号将其定位于细胞核中，从而对某些靶基因的转录起到激活或抑制作用。系统进化分析发现，多刺绿绒蒿 WD40 与大豆、银杏、青蒿、唐松草等的 WD40 的亲缘关系较远，而和同是罂粟科的罂粟、博落回相似度更高，这可能与进化关系相近的植物存在相似的功能有关系，确实罂粟、博落回和多刺绿绒蒿三种植物都具有特征性次生代谢物异喹啉生物碱(Fan et al., 2015; Guo et al., 2016; 赵凤等，2017)，这些相关性以及这些植物是否还存在其他相近的功能还需要进一步的实验探索。

启动子响应元件预测分析可以初步了解特定基因对许多因素的响应机制，是研究植物基因功能的最主要手段之一。启动子顺式调控元件分析表明多刺绿绒蒿 *WD*40 基因家族可以响应应激、厌氧、干旱、光等非生物胁迫以及生长素、赤霉素、茉莉酸等激素信号。海南龙血树(*Dracaena cambodiana*，Dc)*DcWD*40-1 基因的启动子区域具有典型真核生物启动子结构特征，包含多个能够响应激素和胁迫的作用元件，如 CMRs、ABRE、TGA-box、TCA-element、ARE、HSE 和 LTR 等；表达分析发现 *DcWD*40-1 的表达受到茉莉酸甲酯、细胞分裂素、油菜素内酯和 UV-B 的显著影响(朱家红等，2020)。此外，WD40 蛋白通过复杂的调节网络广泛参与植物次生代谢调控、形态发育等过程(Feyissa et al., 2019; Meng et al., 2019; 王刚等，2019; Yuan et al., 2019)。如在黄酮及类黄酮化合物的生物合成过程中 WD40 转录因子与 MYB，bHLH 互作后起调控作用(Broun, 2005; Ramsay & Glover, 2005; Shan et al., 2019)；miR156/SPL13 和 WD40-1 相互作用调节苜蓿(*Medicago*)的耐旱性(Feyissa et al., 2019)；MtWD40-1 和 WHITEPETAL1、MtTT8 结合可以对类胡萝卜素衍生以及花色素积累(Meng et al., 2019)过程进行调控；丹参 *WD*40-170 基因可以调节丹参中迷迭香酸、丹酚酸 B、丹参酮 IIA 和隐丹参酮的含量(马文，2019)。

总之，多刺绿绒蒿其生长环境特殊，外形有肉眼可见的毛状刺，以及含有特征性成分异喹啉生物碱，这些生物学过程通常是由植物激素、转录调节因子等因素形成复杂的调控网络而决定最终的发生。对多绿绒蒿 *WD*40 基因家族的鉴定可为以后详细研究这些基因在上述生物学过程中的作用及其详细调控网络提供前期基础和后续研究方向。

参考文献：

BIAN SM, LI XY, MAINALI H, et al., 2017. Genome-wide analysis of DWD proteins in soybean (*Glycine max*): Significance of Gm08DWD and GmMYB176 interaction in isoflavonoid biosynthesis [J]. PLoS ONE, 12(6): e0178947.

BROUN P, 2005. Transcriptional control of flavonoid biosynthesis: a complex network of conserved regulators involved in multiple aspects of differentiation in *Arabidopsis* [J]. Curr Opin Plant Biol, 8(3): 272-279.

CHEN MX, ZHANG B, LI CX, et al., 2015. TRANSPARENT TESTA GLABRA1 regulates the accumulation of seed storage reserves in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiol, 169(1): 391-402.

DIERMA•DZPC, 2012. Beads medica [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishing House: 157. [帝玛尔•丹增彭措，2012. 晶珠本草 [M]. 上海：上海科学技术出版社：157.]

FAN JP, WANG YQ, WANG XB, et al., 2015. The antitumor activity of *Meconopsis horridula* Hook, a traditional tibetan medical plant, in murine leukemia L1210 cells [J]. Cell Physiol Biochem, 37(3): 1055-1065.

FENG RC, ZHANG CH, MA RJ, et al., 2019. Identification and characterization of WD40 superfamily genes in peach [J]. Gene, 710: 291-306.

FEYISSA BA, ARSHAD M, GRUBER MY, et al., 2019. The inter-play between miR156/SPL13 and DFRR/WD40-1 regulate drought tolerance in alfalfa [J]. BMC Plant Biol, 19(1): 434.

GACHOMO EW, JIMENEZ-LOPEZ JC, BAPTISTE LJ, et al., 2014. GIGANTUS1 (GTS1), a member of Transducin/WD40 protein superfamily, controls seed germination, growth and biomass accumulation through ribosome-biogenesis protein interactions in *Arabidopsis thaliana* [J]. BMC Plant Biol, 14: 37.

GAO XQ, CHEN ZH, ZHANG J, et al., 2012. OsLIS-L1 encoding a lissencephaly type-1-like protein with WD40 repeats is required for plant height and male gametophyte formation in rice [J]. Planta, 235(4): 713-27.

GOU YF, TANG JS, YU S, et al., 2021. Genome-wide identification and expression of RcWD40 family in castor (*Ricinus communis* L.) [J/OL]. Chin J Oil Crop Sci: 1-11. [苟亚夫，唐杰松，于耸，等，2021. 蓖麻 RcWD40 家族鉴定与表达分析 [J/OL]. 中国油料作物学报：1-11. (2021-04-26) [2021-07-12]. https://kns.cnki.net/kcms/detail/42.1429.S.20210426.0918.001.html(DOI:10.19802/j.issn.1007-9084.2021041)]

GUO Q, BAI RF, ZHAO BS, et al., 2016. An ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological review of the genus *Meconopsis* [J]. Am J Chin Med, 44 (3): 439-462.

GUO ZQ, 2014. Research on anti-myocardial ischemia effect and chemical constituents of Tibetan medicine *Meconopsis horridula* [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine: 65-69. [郭志琴，2014. 藏药多刺绿绒蒿抗心肌缺血作用与化学成分研究 [D]. 北京：北京中医药大学：65-69.]

GUTIERREZ N, TORRES AM, 2019. Characterization and diagnostic marker for TTG1 regulating tannin and anthocyanin biosynthesis in fababean [J]. Sci Rep, 9(1): 16174. .

HU R, XIAO J, GU T, et al., 2018. Genome-wide identification and analysis of WD40 proteins in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. BMC Genomics, 19(1): 803.

JIANG L, WANG Y, LI QF, et al., 2012. *Arabidopsis* STO/BBX24 negatively regulates UV-B signaling by interacting with COP1 and repressing HY5 transcriptional activity [J]. Cell Res, 22(6): 1046-1057.

LI G, ZHAO JH, QIN BB, et al., 2019. ABA mediates development-dependent anthocyanin biosynthesis and fruit coloration in *Lycium* plants [J]. BMC Plant Biol, 19(1): 317.

LU CD, LI Y, SUN D, et al., 2021. Genome-wide identification and expression analysis of *GATA* gene family in foxtail millet [J/OL]. Acta Agric Boreal-occident Sin, 30(5): 1-10. [卢成达，李阳，孙迪，等，2021. 谷子 GATA 基因家族的鉴定及表达分析[J]. 西北农业学报，30(5)：1-10.]

MA W, 2019. Identification of *WD*40 gene family and function of *SmWD*40-170 gene in *Salvia miltiorrhiza Bunge* [D]. Xi’an: Shaanxi Normal University. [马文，2019. 丹参 WD40 基因家族鉴定及 *SmWD*40-170 基因功能研究 [D]. 西安：陕西师范大学.]

MENG YY, WANG ZY, WANG YQ, et al., 2019. The MYB activator white PETAL1 associates with MtTT8 and MtWD40-1 to regulate carotenoid-derived flower pigmentation in *Medicago truncatula* [J]. Plant Cell, 31(11): 2751-2767.

MISHRA AK, MUTHAMILARASAN M, KHAN Y, et al., 2014. Genome-wide investigation and expression analyses of WD40 protein family in the model plant foxtail millet (*Setaria italica* L.) [J]. PLoS ONE, 9(1): e86852.

NOCKER SV, LUDWIG P, 2003. The WD-repeat protein superfamily in *Arabidopsis*: Conservation and divergence in structure and function [J]. BMC Genomics, 4(1): 50.

OUYANG YD, HUANG XL, LU ZH, et al., 2012. Genomic survey, expression profile and co-expression network analysis of OsWD40 family in rice [J]. BMC Genomics, 13: 100.

PATTANAIK S, PATRA B, SINGH SK, et al., 2014. An overview of the gene regulatory network controlling trichome development in the model plant, *Arabidopsis* [J]. Front Plant Sci, 5: 259.

RAMSAY NA, GLOVER BJ, 2005. MYB-bHLH-WD40 protein complex and the evolution of cellular diversity [J]. Trends Plant Sci, 10(2): 63-70. .

SALIH H, GONG WF, MKULAMA M, et al., 2018. Genome-wide characterization, identification, and expression analysis of the WD40 protein family in cotton [J]. Genome, 547: 539-547.

SHAN XT, LI YQ, YANG S, et al., 2019. A functional homologue of *Arabidopsis* TTG1 from freesia interacts with bHLH proteins to regulate anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in both *Freesia hybrida* and *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Physiol Biochem, 141: 60-72.

SHI SS, CHEN W, SUN WN, 2011. Comparative proteomic analysis of the *Arabidopsis* cbl1 mutant in response to salt stress [J]. Proteomics, 11(24): 4712-25.

STIRNIMANN CU, PETSALAKI E, RUSSELL RB, et al., 2010. WD40 proteins propel cellular networks [J]. Trends Biochem Sci, 35(10): 565-574.

TSUCHIYA Y, NAMBARA E, NAITO S, et al., 2004. The FUS3 transcription factor functions through the epidermal regulator TTG1 during embryogenesis in *Arabidopsis* [J]. Plant J, 37(1): 73-81.

WANG G, ZHANG ZR, WANG YF, et al., 2020. Bioinformatics analysis of safflower WD40 transcription factor family genes [J]. China J Chin Mat Med, 45(14): 3432-3440. [王刚，章正仁，王一非，等，2020. 红花 CtWD40 转录因子家族基因的生物信息学分析 [J]. 中国中药杂志，45(14)：3432-3440.]

WEI ZL, CHENG YL, ZHOU CC, et al., 2019. Genome-wide identification of direct targets of the TTG1-bHLH-MYB complex in regulating trichome formation and flavonoid accumulation in *Arabidopsis thaliana* [J]. Int J Mol Sci, 20(20): 5014.

XU C, MIN JR, 2011. Structure and function of WD40 domain proteins [J]. Protein Cell, 2(3): 202-214.

YAN L, CHEN JW, WANG CP, et al., 2019. Analysis of WD40 protein family based on transcriptome sequencing in *Lycium ruthenicum* Murr.[J]. J Nucl Agric Sci, 33(3): 482-489. [严莉，陈建伟，王翠平，等，2019. 基于转录组信息的黑果枸杞 WD40 蛋白质家族分析[J]. 核农学报， 33(3)：482-489.]

YANG XH, WANG JR, XIA XZ, et al., 2021. OsTTG1, a WD40 repeat gene, regulates anthocyanin biosynthesis in rice [J]. Plant J, 107(1): 198-214.

YANG YC, 1991. Tibetan medicine volunteers [M]. Xining: Qinghai People's Publishing House: 294, 465. [杨永昌，1991. 藏药志 [M]. 西宁：青海人民出版社：294，465.]

YUAN F, LENG BY, ZHANG HN, et al., 2019. A WD40-repeat protein from the *Recretohalophyte limonium* bicolor enhances trichome formation and salt tolerance in *Arabidopsis* [J]. Front Plant Sci, 10: 1456.

ZHANG CG, ZHANG F, 2015. The multifunctions of WD40 proteins in genome integrity and cell cycle progression [J]. Genomics, 3: 40-50.

ZHANG F, GONZALEZ A, ZHAO MZ, et al., 2003. A network of redundant bHLH proteins functions in all TTG1-dependent pathways of *Arabidopsis* [J]. Development, 130(20): 4859-4869.

ZHAO F, ZHANG HXG, BAI RF, et al., 2017. Advance of a representative traditional Tibetan medicine *Meconopsis horridula* on its phytochemical and pharmacological aspect[J]. Chin J Chin Mat Med, 42(19): 3676-3683. [赵凤，张和新歌，白睿峰，等，2017. 藏药多刺绿绒蒿的化学和药理学研究进展 [J]. 中国中药杂志，42(19): 3676-3683.]

ZHAO L, GAO LP, WANG HX, et al., 2013. The R2R3-MYB, bHLH, WD40, and related transcription factors in flavonoid biosynthesis [J]. Funct Integr Genomics, 13(1): 75-98.

ZENG CJT, LEE YRJL, LIU B, 2009. The WD40 repeat protein NEDD1 functions in microtubule organization during cell division in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Cell, 21(4): 1129-40.

ZHU JH, JEONG JC, ZHU YM, et al., 2008. Involvement of *Arabidopsis* HOS15 in histone deacetylation and cold tolerance [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 105(12): 4945-50.

ZHU JH, XIA DN, WANG Y, et al., 2020. Cloning and expression analysis of WD40 transcription factor gene *DcWD*40-1 from *Dracaena cambodiana* [J]. Guihaia, 40(1) : 136-142. [朱家红，夏栋楠，王颖，等， 2020. 海南龙血树 WD40 转录因子基因 *DcWD*40-1 的克隆和表达分析 [J]. 广西植物，40(1): 136-142.]